

УДК 576.895.121

МОРФОГЕНЕЗ ЖЕЛЕЗ ПРОНИКНОВЕНИЯ
У *TRIAENOPHORUS NODULOSUS* (CESTODA: PSEUDOPHYLLIDEA)

© В. Г. Давыдов, Ж. В. Корнева

Детально изучены организация и ультраструктура желез проникновения цестоды *T. nodulosus* в онтогенезе. Обосновывается связь между структурными изменениями желез проникновения и особенностями паразитирования червей на всех стадиях сложного жизненного цикла.

Экзокринные железы, посылающие свои протоки в переднюю часть тела личинок и взрослых цестод и расположенные в паренхиме тела либо ограниченные в своей локализации сколексами червей, часто обозначают как фронтальные железы (Wardle, McLeod, 1952; Kuhlow, 1953; Куперман, Давыдов, 1981, 1982, и др.). Электронно-микроскопическими методами было установлено, что они разделяются на два типа, отличающиеся не только по строению, но и по происхождению. Первые представляют собой модифицированные элементы покровного синцития (тегументальные железы). Вторые не связаны в своем возникновении с покровами, как правило, глубоко погружены в паренхиму, а их концевые отделы отграничены от наружного цитоплазматического слоя мембранами (Arme, Threadgold, 1976; Давыдов, Бисерова, 1985; Давыдов, Поддубная, 1988; Куперман, 1988, и др.). По отношению к личиночным стадиям развития цестод за последними закрепилось название желез проникновения. Вместе с тем специальные исследования, которые функционально подтверждали бы этот термин, остаются единичными (Lethbridge, Gijssbers, 1974; Goggins, 1980). В частности, экспериментально показана связь между степенью функциональной активности желез личинок *Triaenophorus nodulosus* и процессом проникновения паразитов в ткани промежуточных хозяев (Давыдов, 1981a, 1981b).

Важная роль желез проникновения в осуществлении жизненных циклов ленточных червей, циркуляция паразитов в системе промежуточных и внедрение в стенку кишечника дефинитивных хозяев определяют особый интерес к их изучению. Целью данной работы, представляющей собой продолжение ранее проведенных исследований (Куперман, Давыдов, 1981, 1982), было расширение наших представлений о строении и функции желез проникновения на всех стадиях сложного жизненного цикла широко распространенной цестоды *Triaenophorus nodulosus*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Половозрелых червей добывали из кишечника *Esox lucius*, а плероцеркоидов — из печени сеголетков *Perca fluviatilis*, отловленных в Рыбинском водохранилище. Корацидиев получали из яиц, выделенных из половозрелых стробил, а процеркоидов — путем заражения копепод *Cyclops vicinus* и *Eudiaptomus graciloides*.

Передние отделы стробил взрослых червей, а личинок целиком фиксировали в 2.5 %-ном глутаровом альдегиде на 0.1 М какодилатном буфере (pH = 7.3) в течение 3–12 ч, промывали в буфере и дофиксировали в 1 %-ной четырехокиси осмия от 30 мин до 1 ч, обезживали в спиртах, ацетоне и заливали в аралдит. В работе

преимущественно использовали серийные срезы, которые просматривали в электронном микроскопе JEM-100С при 80 kV.

Для дополнительного изучения материал фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин и после изготовления срезов проводили окраску паральдегид-фуксином (ПАФ) по Гомори, гематоксилин-эозином, толуидиновым синим, альциановым синим и методом ШИК (Кононский, 1976).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У онкосфер железы проникновения представлены двумя некрупными клетками, локализованными в задней части тела личинок. Протоки желез открываются в области латеральных крючьев (рис. 1, 2). Цитоплазма железистых клеток содержит развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум и крупные округлые или слегка вытянутые гранулы секрета, размером от 0.17–0.21 до 0.31–0.46 мкм (рис. 3, а, см. вкл.). От каждой клетки отходят один-два отростка, переходящие в протоки с разреженной цитоплазмой, в которой отсутствуют органоиды. Изучение серийных срезов позволило сделать реконструкцию концевых отделов секреторных протоков и их взаимоотношения с поверхностными структурами личинки (рис. 2). По периферии протоки укреплены микротрубочками. Замкнутые мембранами концевые отделы протоков заканчиваются в толще цитоплазматической оболочки, окружающей онкосферу. Между оболочкой и стенкой протоков имеются специализированные контакты типа септированных десмосом. Базальная пластинка, ограничивающая онкосферу, вместе с цитоплазматической оболочкой формирует хорошо различимое впячивание, направленное внутрь тела личинки и,

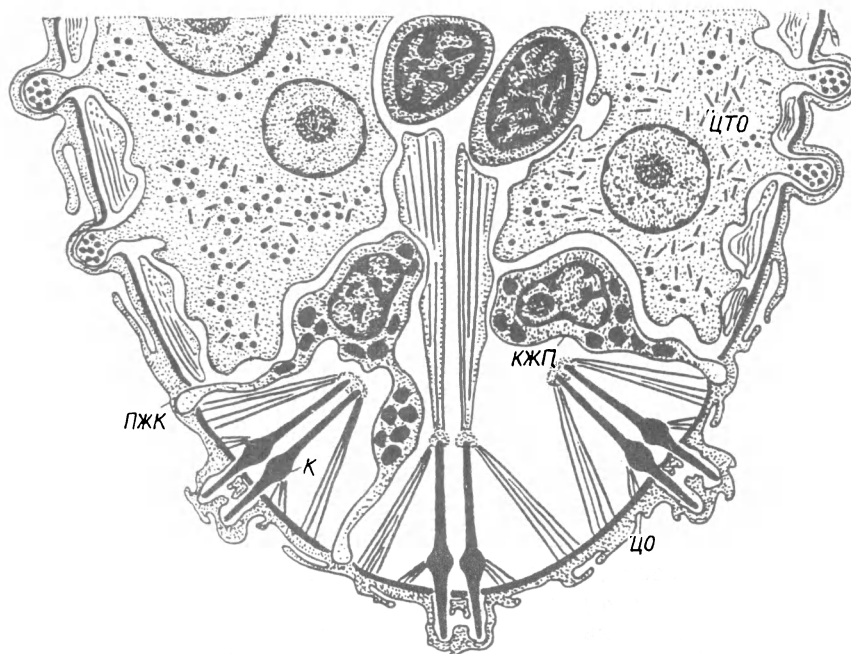


Рис. 1. Схемы строения заднего конца тела онкосферы.

К — крючья; КЖП — клетки желез проникновения; ПЖК — протоки желез проникновения; ЦО — цитоплазматическая оболочка онкосферы; ЦТО — цитоны тегумента онкосферы.

Fig. 1. Scheme of the ultrastructure of the oncospherical rear part.

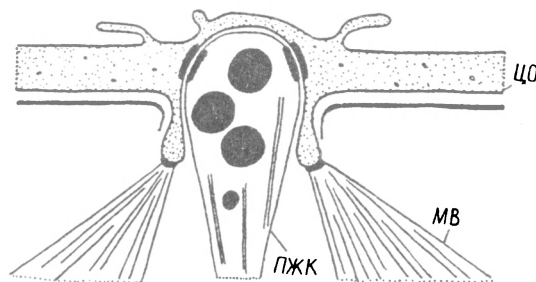


Рис. 2. Схема строения концевой отдела железистого протока у онкосферы.

МВ — мышечное волокно.
Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

Fig. 2. Scheme of the apical part of frontal gland duct.

как воротничок, охватывающее дистальный отдел протока. К этому воротничку прикрепляются с помощью десмосом волокна соматической мускулатуры.

Светооптическая идентификация желез проникновения онкосфер представляет значительные трудности из-за их небольших размеров. Железистые клетки маскируются другими структурами личинок. Лишь после проведения ШИК-реакции удастся обнаружить слабое специфическое окрашивание пары клеток, расположенных в районе латеральных крючков, что указывает на присутствие небольшого количества нейтральных гликопротеинов. Эти клетки мы склонны идентифицировать с железами проникновения, выявленными электронно-микроскопическим методом.

После попадания онкосфер в полость тела первых промежуточных хозяев железистые клетки исчезают из задней части тела личинок. По-видимому, они дегенирируют. Однако уже на 4–5-е сутки развития процеркоидов в центральной паренхиме личинок обнаруживаются единичные клетки округлой формы с центрально расположенным ядром и хорошо развитым концентрически упорядоченным гранулярным эндоплазматическим ретикулумом. По периферии клеток расположены немногочисленные округлые гранулы электронноплотного секрета (рис. 3, б). Их диаметр составляет 0.36–0.61 мкм. В период формирования у процеркоидов церкомера интенсивность секретобразования в этих клетках значительно увеличивается и наряду с этим возрастает их число. Они образуют длинные отростки, направленные к переднему концу тела, в которых присутствуют микро-трубочки. Связи формирующихся протоков желез с покровами тела в этот период развития процеркоидов еще не наблюдается. Одновременно клетки желез проникновения наряду с мышечными и выделительными элементами включаются в процесс накопления запасных питательных веществ, которые откладываются в специализированных цитоплазматических отростках. Гистохимически железистые клетки интенсивно окрашиваются ПАФ-ом, базофильны и дают реакцию на присутствие нейтральных гликопротеинов (средней интенсивности положительная ШИК-реакция).

У сформированных процеркоидов выявлены два типа желез проникновения. Для первого (описанного выше) характерны крупные округлые, диаметром 0.3–0.6 мкм гранулы секрета, плотно заполняющие клетки и протоки. Свободными от секрета остаются небольшие участки окооядерной цитоплазмы, содержащие гранулярный ретикулум. Часть гранул сливается и образует в клетках и протоках области с гомогенным электронноплотным материалом (рис. 3, в).

Второй тип желез формируется только на завершающих этапах развития процеркоидов и отличается от первого удлиненной формой секреторных гранул и их меньшими размерами, составляющими 0.18–0.25 длины мкм (рис. 3, в). Слияния гранул, как это наблюдалось в железах первого типа, не происходит.

Железы как первого, так и второго типов обладают синцитиальной структурой — участки цитоплазмы, содержащие 1–3 ядра, соединяются различной толщины отростками. Этот синцитий плотно заполняет центральную часть паренхимы

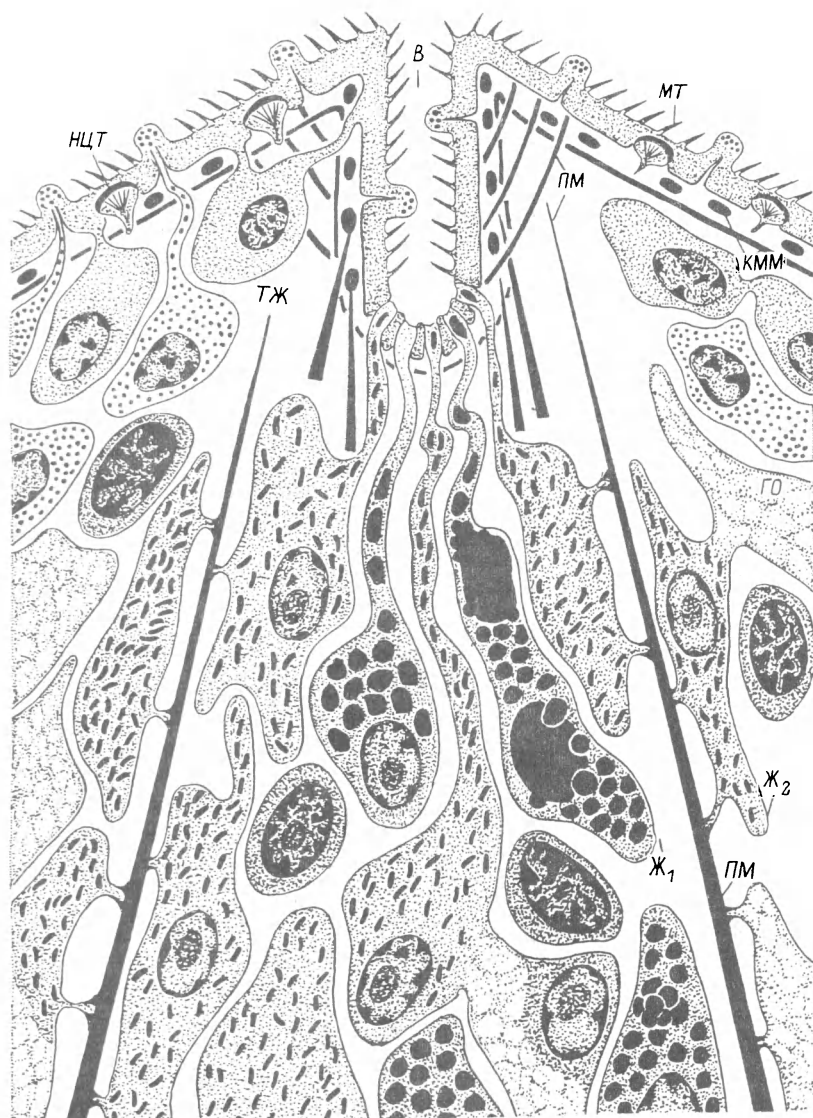


Рис. 5. Схемы строения переднего отдела тела сформированного процеркоида.

В — воронкообразное углубление; ГО — гликогенсодержащие отростки; КММ — кожно-мышечный мешок; МТ — микротрихии; ПМ — паренхимная мускулатура; ТЖ — тегументальные железы. Остальные обозначения те же, что и на рис. 3.

Fig. 5. Scheme of the frontal part of full formed proceroid.

личинок. Кроме того, для второго типа желез характерно наличие прямых синцитиальных связей, осуществляемых с помощью тонких цитоплазматических выростов между железистыми клетками и саркоплазмой волокон продольной паренхимной мускулатуры (рис. 4, а; см. вкл.). Следует отметить, что отдельные участки синцития желез не содержат гранул секрета, а специализируются в накоплении гликогена.

Оба типа желез дают отростки, направленные к переднему концу тела личинок. В своих дистальных отделах они приобретают характер протоков, укрепленных периферически расположенными микротрубочками, и содержат электронно-светлый матрикс. Протоки открываются во внешнюю среду, а их апикальные участки связаны с наружной цитоплазмой покровов септированными контактами (рис. 4, б).

Протоки как первого, так и второго типов желез локально и „густо“ открываются на дне воронкообразного углубления (рис. 5). Воронкообразное углубление представляет собой инвагинацию покровов апикального конца тела личинок. Тегумент, образующий стенку этого углубления, аналогичен по своей структуре тегументу остальных отделов тела. Микротрихин также сохраняют свое строение и плотность расположения, за исключением дна углубления, где они отсутствуют, и где открываются многочисленные протоки желез проникновения. Вместе с тем прослеживается и определенная тенденция к специализации мышечных и соединительнотканых элементов, заключающаяся в большей толщине базальной пластинки, подстилающей наружный цитоплазматический слой воронки, а также увеличении количества и диаметра волокон кольцевой мускулатуры кожно-мышечного мешка. Наряду с этим наблюдается определенная специализация паренхимной мускулатуры. Между волокнами продольной паренхимной мускулатуры и кольцевой мускулатурой кожно-мышечного мешка наблюдаются синцитиальные связи, а косо направленные мышечные волокна связывают стенку воронки со стенкой боковой поверхности тела (рис. 5).

После проникновения процеркоидов в ткани вторых промежуточных хозяев у развивающихся плероцеркоидов в течение 7–8 дней сохраняется то же строение аппарата желез проникновения, что и у инвазионных процеркоидов, паразитирующих в полости тела копепода.

На более поздних этапах развития личинок в процессе их инкапсуляции и формирования крючьев строение железистого аппарата существенно упрощается. Это связано с полным исчезновением желез второго типа. От воронкообразного углубления остается неглубокая ямка, полностью утратившая связь с концевыми отделами железистых протоков. Секреторные протоки выходят на поверхность по всему сколексу и частично в передних отделах тела, но в основном выход секрета приурочен к области крючьев. Железистые клетки не объединяются в какие-либо комплексы, а свободно лежат глубоко в паренхиме сколекса и передних отделов тела червей. Клетки, их отростки и протоки плотно заполнены крупными, округлыми электронноплотными гранулами секрета, диаметром от 0.19 до 0.8 мкм. Концевые отделы протоков зачастую сильно расширены и образуют своеобразные резервуары, плотно заполненные секретом (рис. 4, в). Секреторные протоки способны ветвиться и окружены толстой волокнистой пограничной пластинкой (рис. 4, г), их апикальные концы имеют типичное строение. Они отграничены от наружной цитоплазмы тегумента клеточной мембраной, а связь между стенкой протока и наружной цитоплазмой осуществляется с помощью септированных контактов.

Применение гистологических методов выявило, что железы проникновения сформированных плероцеркоидов обладают выраженной базофилией. ПАФ-положительны, а ШИК-реакция приводит к появлению слабой специфической окраски, тогда как ни толуидиновым, ни альциановым синим железы специфически не окрашиваются. Эти данные свидетельствуют о присутствии в секрете желез незначительного количества нейтральных гликопротеинов.

Локализация, степень развития и ультраструктурные особенности желез проникновения у взрослых *T. nodulosus* вполне соответствуют таковым у сформированных плероцеркоидов и были изучены нами ранее (Куперман, Давыдов, 1981, 1982).

ОБСУЖДЕНИЕ

Строение, локализация и степень развития экзокринных желез (желез проникновения) цестоды *T. nodulosus* в процессе онтогенеза претерпевают ряд существенных модификаций. У онкосфер они представлены парой свободно лежащих железистых клеток, которые тем не менее обладают специализированными протоками. Протоки укреплены микротрубочками и связаны с цитоплазматической оболочкой онкосферы септированными десмосомами. К внутренним выростам цитоплазматической оболочки прикрепляются волокна соматической мускулатуры. Очевидно, что это способствует эффективному выделению секрета в момент проникновения через стенку кишечника копепода.

На самых ранних этапах морфогенеза процеркоидов (1–1.5 сут паразитирования) клетки желез проникновения не выявляются, что дает основание предполагать дегенерацию онкосферных желез и возникновение их *de novo* на более поздних стадиях развития личинок. Подтверждением этому служит присутствие в центральной паренхиме развивающихся процеркоидов безотростчатых железистых клеток, находящихся в начальном периоде накопления секрета. Между тем формы, размеры, электронная плотность секреторных гранул и гистохимические показатели (специфическое окрашивание при ШИК-реакции) вновь образующихся железистых клеток оказываются аналогичными таковым у онкосфер. На этом основании мы считаем железы проникновения онкосфер и процеркоидов гомологичными структурами. Исключением являются железы второго типа, появляющиеся на короткий период.

Следует отметить, что железы проникновения онкосферы *T. nodulosus*, как и у представителей некоторых других видов низших цестод (Давыдов, Куперман, 1979; Куперман, Давыдов, 1981, 1982), в отличие от хорошо изученных желез проникновения онкосфер высших Cyclophyllidea (Fairweather, Threadgold, 1981; Кашин, Плужников, 1983; Кашин, 1986, и др.) имеют различное происхождение. Железы проникновения у онкосфер высших цестод являются модифицированными ядродержащими участками первичных покровов, тогда как у низших цестод железы на всех стадиях развития закладываются самостоятельно и не связаны в своем происхождении с синцитием тегумента.

Наибольшей специализацией железы проникновения *T. nodulosus* достигают на стадии инвазионного процеркоида. Это вполне объяснимо функционально. Для дальнейшего осуществления жизненного цикла процеркоиду необходимо преодолеть значительные тканевые барьеры: проникнуть через стенку кишечника вторых промежуточных хозяев и внедриться в печень. Очевидно, что для эффективного обеспечения этих процессов появляется дополнительный второй тип железистых клеток и, что наиболее существенно, образуется специализированный аппарат выделения секрета в виде воронкообразного углубления. Вокруг последнего группируются мышечные волокна, часть из которых, возможно, способна выполнять функцию ретракторов (волокна продольной паренхимной мускулатуры), а другая – протракторов, или фиксаторов (мышечные волокна между стенкой воронки и боковой поверхностью тела). Организация данного аппарата выделения секрета чрезвычайно сходна с хоботком амфилинид (*Amphilina foliacea*) (Давыдов, Куперман, 1993). Не исключено, что и воронкообразное углубление *T. nodulosus* способно функционировать как хоботок. Однако это предположение требует экспериментальной проверки.

Интересным представляется выявленная синцитиальная связь между железами второго типа и продольной паренхимной мускулатурой. Нам не удалось детально проследить гистогенез желез второго типа, но можно предполагать, что железисто-мышечный синцитий возникает не в результате дифференцировки мышечных клеток в железистом направлении, а путем функционального объединения уже дифференцированных элементов (железистых и мышечных клеток).

В пользу этого свидетельствует выраженная разграниченность двух элементов, соединяющихся лишь тонкими цитоплазматическими мостиками, а также появление желез второго типа только на завершающих стадиях морфогенеза процеркоидов, когда основные структуры паренхимы личинок (и, в частности, мышечная система) уже вполне дифференцированы.

Упрощение структуры желез проникновения у инвазионных плероцеркоидов и взрослых червей определяется, по всей вероятности, снижением их функциональной нагрузки. Сформированные плероцеркоиды находятся в покоящемся, инкапсулированном состоянии, а у взрослых червей деятельность желез связана не с преодолением тканевых барьеров, а с внедрением в стенку кишечника хозяев.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований по проекту № 96-04-49080.

Список литературы

- Давыдов В. Г. Особенности проникновения плероцеркоидов некоторых цестод в ткани их хозяев // Биол. внутр. вод. Информ. бюл. 1981а. № 52. С. 57–62.
- Давыдов В. Г. Сравнительная морфофункциональная характеристика некоторых систем органов цестод отряда Pseudophyllidae: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1981б. 15 с.
- Давыдов В. Г., Бисерова Н. М. Морфология двух типов фронтальных желез *Grillotia erinaceus* (Cestoda, Trypanorhyncha) // Паразитология. 1985. Т. 19, вып. 1. С. 32–38.
- Давыдов В. Г., Куперман Б. И. Структура фронтальных желез у представителей трех отрядов цестод // Тр. Ин-та биологии внутренних вод АН СССР. Л., 1979. № 38/31. С. 177–188.
- Давыдов В. Г., Куперман Б. И. (Davydov V. G., Kuperman B. I.) The ultrastructure of the tegument and the peculiarities of the biology of *Amphilina foliaceae* adult (Plathelminthes, Amphilinida) // Folia Parasitol. 1993. Vol. 40. P. 13–22.
- Давыдов В. Г., Поддубная Л. Г. Функциональная морфология фронтальных и маточных желез у представителей цестод отряда Pseudophyllidae // Паразитология. 1988. Т. 22, вып. 6. С. 449–456.
- Кашин В. А. Сравнительная морфология и гистохимия желез проникновения онкосфер некоторых циклофиллид // Паразитология. 1986. Т. 20, вып. 2. С. 126–131.
- Кашин В. А., Плужников Л. Т. Цитоморфология зрелых яиц цестоды *Fimbriaria fasciolaris* (Cestoda, Hymenolepidae) // Паразитология. 1983. Т. 17, вып. 6. С. 430–435.
- Кононский А. И. Гистохимия. Киев: Виц. шк., 1976. 230 с.
- Куперман Б. И. Функциональная морфология низших цестод. Л.: Наука, 1988. 167 с.
- Куперман Б. И., Давыдов В. Г. (Kuperman B. I., Davydov V. G.) The fine structure of glands in oncospheres, proceroids and plerocercoids of Pseudophyllidae (Cestoidea) // Int. J. Parasitol. 1981. Vol. 12, N 2/3. P. 135–144.
- Куперман Б. И., Давыдов В. Г. (Kuperman B. I., Davydov V. G.) The fine structure of frontal glands in adult cestodes // Int. J. Parasitol. 1982. Vol. 12, N 4. P. 285–293.
- Arme C., Threadgold L. T. A unique tegumentary cell type and unicellular glands associated with the scolex of *Eubothrium crassum* (Cestoda, Pseudophyllidae) // Rice University Press. 1976. Vol. 62, N 4. P. 21–34.
- Fairweather L., Threadgold L. T. *Hymenolepis nana*: the fine structure of the „penetration gland” and nerve cell within the oncosphere // Parasitol. 1981. Vol. 82, N 3. P. 445–458.

- Goggins I. R. Apical end organ structure and histochemistry in plerocercoids of *Proteocephalus ambloplitis* // Int. J. Parasitology. 1980. Vol. 10, N 2. P. 97–101.
- Kuhlow F. Bon und Differentialdiagnose heimischer Diphylobothrium Plerocercoiden // Z. Tropenmed. Parasit. 1953. Bd 4, N 2. S. 186–202.
- Lethbridge R. C., Gijssels M. F. Penetration gland secretion by hexacanth of *Hymenolepis diminuta* // Parasitology. 1974. Vol. 68, N 3. P. 303–311.
- Wardle R. A., McLeod J. A. The zoology of tapeworms. Minneapolis: University Minnesota Press, 1952. 780 p.

ИБВВ им. И. Д. Папанина,
п. Борок, 152742

Поступила 13.11.1996

MORPHOGENESIS OF PENETRATION GLANDS IN *TRIAENOPHORUS NODULOSUS* (CESTODA: PSEUDOPHYLLIDEA)

V. G. Davydov, Zh. V. Korneva

Key words: *Triaenophorus nodulosus*, oncosphere, procercoid, plerocercoid, adult worm, fine structure, penetration glands.

SUMMARY

The penetration glands of *Triaenophorus nodulosus* undertake great structure modifications during a life cycle. A pair of gland cells in oncosphere provided with specialized ducts degenerates and appears „de novo” during a morphogenesis process of plerocercoids. Most high specialized structure of penetration glands is reached in the invasion plerocercoid stage. A gland apparatus of the invasion plerocercoids consists of two types of gland cells, ducts of which open into the funnel-like depression. This depression is provided with special muscles to accelerate the excretion. In the incapsuled plerocercoids and adult worms the penetration apparatus is simplified. The penetration glands are represented by single cells situated in a parenchyma of scolex and in anterior parts of the worm body.

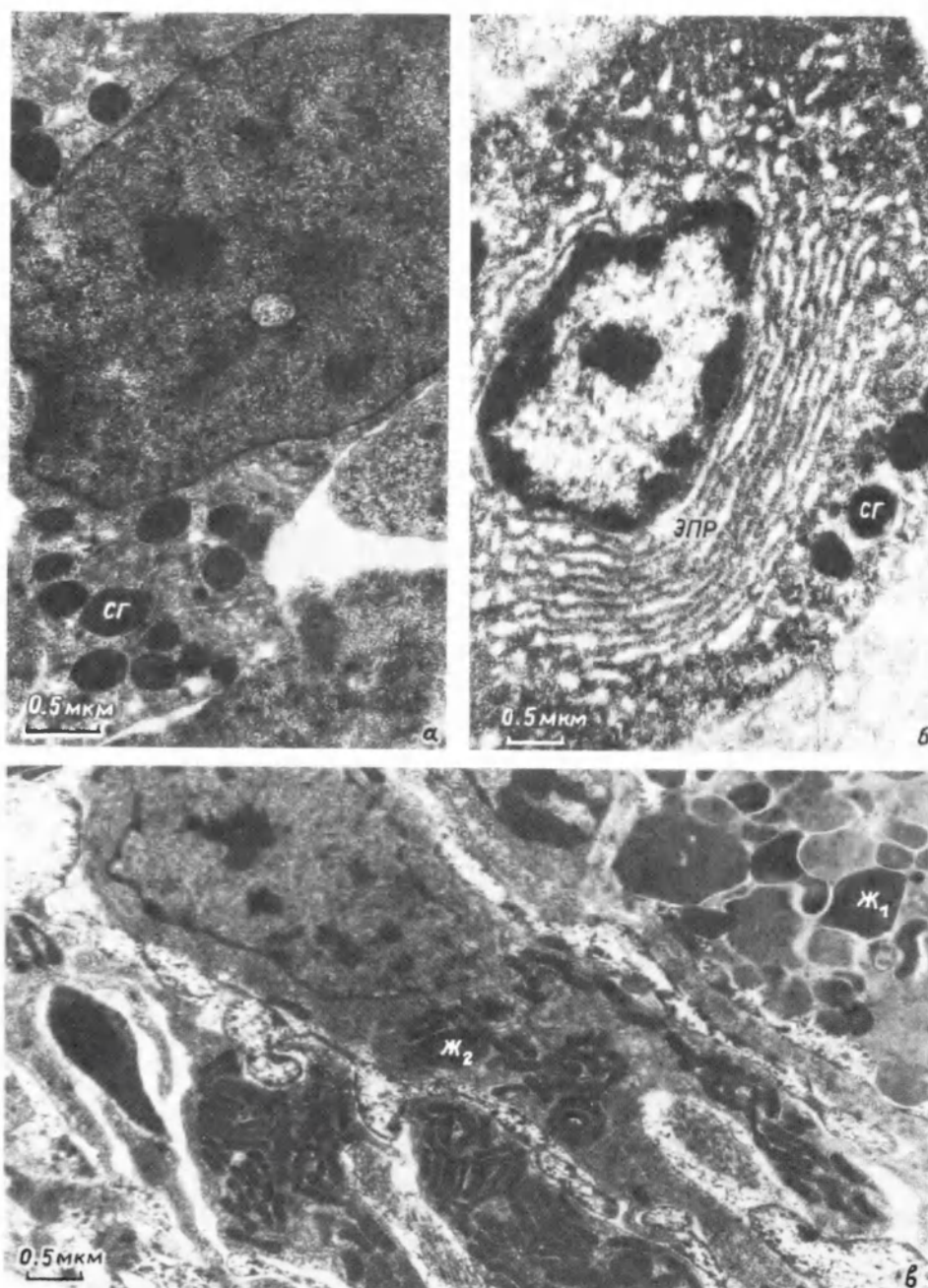


Рис. 3. Ультраструктура желез проникновения онкосферы и процеркоида.

а — фрагмент железистой клетки онкосферы; *б* — начальная стадия секретообразования в железистой клетке развивающегося процеркоида (первый тип желез); *в* — два типа желез проникновения сформированного процеркоида *Ж1* — железы первого типа; *Ж2* — железы второго типа; *СГ* — гранулы секрета; *ЭПР* — эндоплазматический ретикулум.

Fig. 3. The ultrastructure of penetration glands in oncosphere and proceroid stages.

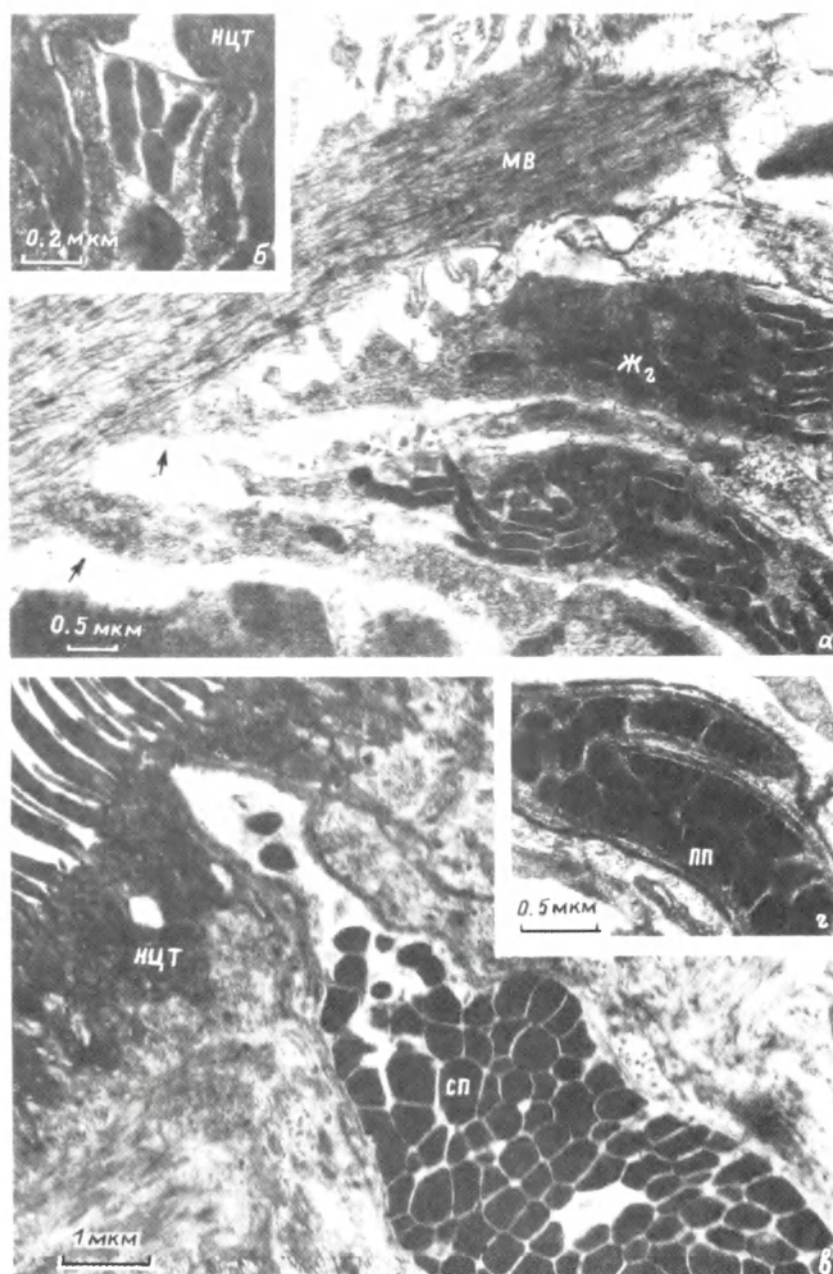


Рис. 4. Ультраструктура желез проникновения процеркоида и плероцеркоида.

а — связь желез второго типа с мышечным волокном у сформированного процеркоида (связи указаны стрелками); *б* — выход секреторного протока желез второго типа у сформированного процеркоида; *в* — концевой отдел секреторного протока с резервуаром секрета у плероцеркоида; *г* — разветвление секреторного протока у плероцеркоида; *НЦТ* — наружная цитоплазма тегумента; *ПП* — пограничная пластинка; *СП* — секреторный проток.

Остальные обозначения те же, что на рис. 2 и 3.

Fig. 4. The ultrastructure of the penetration glands in proceroid and plerocercoid stages.